动 物 学 研 究 2003, Jun. 24 (3): 205～210 CN 53－1040/Q ISSN 0254－5853
Zoological Research

树鼩细胞周期蛋白 T1 cDNA 的克隆和序列分析

杨 敏[1,2]，张驰宇[1,2]，贲昆龙[1,3]
（1. 中国科学院昆明动物研究所，云南 昆明 650223；2. 中国科学院研究生院，北京 100039）

摘要：树鼩细胞不能感染 HIV-1，但支持 HIV-1 进入靶细胞后的转录，可能是因为树鼩细胞周期蛋白 T1（tsCycT1）能结合 HIV-1 的 Tat 蛋白。通过设计引物，用 RT-PCR 技术，获得全长为 2 175 bp tsCycT1 基因的 cDNA。其核苷酸序列与人的 CycT1（hCycT1）基因的 cDNA 有 92.6% 的相似性；由此推导出的氨基酸序列有 94.1% 相似性。其中，hCycT1 和 tsCycT1 氨基端的 1～272 个氨基酸的相似性高达 98.8%，氨基酸第 261 位点为半胱氨酸。这些结果提示，tsCycT1 会和 HIV-1 的 Tat 结合，形成高亲和的、锌依赖的复合物，支持 HIV-1 转录。

关键词：树鼩；细胞周期蛋白 T1；cDNA；Tat
中图分类号：Q959.831 **文献标识码**：A **文章编号**：0254－5853(2003)03－0205－06

Cloning and Sequence Analysis of Cyclin T1 cDNA from Tree Shrew (*Tupaia belangeri*)

YANG Min[1,2], ZHANG Chi-yu[1,2], BEN Kun-long[1,3]
(1. *Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming, Yunnan* 650223, *China*;
2. *Graduate School, the Chinese Academy of Sciences, Beijing* 100039, *China*)

Abstract: Tree shrew (*Tupaia belangeri*) is not infected by HIV-1, and its cells apparently support postentry events in HIV-1 infection. Cyclin T1 binding with HIV-1 Tat is responsible for HIV-1 transcription. To understand whether tree shrew cyclin T1 (tsCycT1) binds with HIV-1 Tat protein, the designed primers and RT-PCR were used to amplify the tsCycT1 cDNA. The clone of full-length tsCycT1 cDNA is of 2 175 bp. The homology of tsCycT1 with that of human CycT1 (hCycT1) is 92.6% at nucleotide level and 94.1% at deduced amino acid level, respectively. The first 272 amino acids have 98.8% of homology with hCycT1, and the residue at position C261 is the cysteine. These results suggest that tsCycT1 can form a high-affinity and zinc-dependent complex binding to HIV-1 Tat and TAR, which may support HIV-1 transcription.

Key words: Tree shrew; Cyclin T1; cDNA; HIV-1 Tat

目前，艾滋病研究中亟待解决的问题之一是建立一种容易获得、人艾滋病毒感染后会发病、症状与人 AIDS 相似的动物模型，用于艾滋病发病机理、疫苗及药物研究。树鼩（*Tupaia belangeri*, tree shrew）大量分布于云南、广西一带，体型小，易饲养，繁殖快。树鼩已用作研究近视（Siegwart & Norton, 1998）、应激（Flugge et al, 1999）、甲肝病毒（Zhan et al, 1981）、乙肝病毒（Yan et al, 1989）和丙肝病毒（Xie et al, 1998）等的动物模型。我们曾发现树鼩的免疫细胞不能感染 HIV-1，推测树鼩细胞与人的 HIV-1 受体 CD4 或辅助受体 CCR5 和 CXCR4 可能存在很大差异（Zhang & Ben, 2001）。但树鼩是否可以作为 HIV-1 感染的动物模型仍然值得探讨。

Hofmann et al（1999）用 HIV-1 基因复制缺陷载体感染树鼩细胞，发现树鼩细胞可以支持 HIV-1 进入靶细胞后的转录及复制等步骤。此外，HIV-1 病毒的转录需要宿主的细胞周期蛋白 T1（cyclin

收稿日期：2002－12－25；接受日期：2003－02－28
3. 通讯作者（Corresponding author），Tel：86－0871－5198810，E-mail：kben@mail.kiz.ac.cn

T1，CycT1）和病毒的调控蛋白转录激活因子(transcriptional activator，Tat)、转录激活应答因子(transactivating responsive element，TAR）相互作用(Gold et al，1998)。CycT1是细胞周期依赖的激酶9（cyclin-dependent kinases，CDK）的一个重要亚基。它能增强HIV-1的Tat:TAR的结合，从而提高HIV-1的Tat转录激活的功能（Peng et al，1998）。这是因为CycT1是RNA polymerase Ⅱ（RNA Pol Ⅱ）延伸因子的调控亚单位。HIV-1的Tat蛋白与CycT1结合，激活RNA Pol Ⅱ，使病毒基因组转录得以延伸（Fujinaga et al，1996；Peng et al，1998)。为了弄清树鼩与人的CycT1的结构和功能是否相同，是否支持HIV-1病毒的转录，我们以RT-PCR技术克隆了树鼩的CycT1 cDNA，并做了相关分析。

1 材料和方法

1.1 实验动物

野生树鼩购自云南省昆明市郊。

1.2 实验材料

焦碳酸二乙酯（DEPC)、低熔点琼脂糖为Sigma产品；RT-PCR试剂盒、pMD18-T Vector为大连宝生物有限公司（TaKaRa Biotech）产品；引物为上海基康公司合成；RNA用Trizol Reagent提取，为上海华舜公司产品；DNA胶回收试剂盒为上海生工产品。其他试剂均为分析纯。

1.3 树鼩总RNA的提取

参照上海华舜公司的Trizol Regent试剂说明抽提树鼩总RNA。

1.4 引物合成

根据已发表的人和鼠的CycT1（基因登录号：AF048730和AF109179）保守区域设计引物，其序列见表1。

1.5 RT-PCR

用TaKaRa One Step RNA PCR Kit（AMV)进行RT-PCR反应。树鼩CycT1的引物对为1F、2R和3F、4R，扩增产物的大小分别约为500 bp和1 000 bp。反应条件为:50 ℃ 30 min;94 ℃ 2 min;94 ℃ 30 s,53 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,30个循环。当用引物对5F和6R时，扩增片段约为800 bp，反应条件为：50 ℃ 30 min;94 ℃ 2 min;94 ℃ 30 s,62 ℃ 30 s,72 ℃ 1 min,30个循环。其中，反应条件除退火温度(53 ℃和62 ℃)由预实验决定，其余参照试剂说明书进行

1.6 电泳鉴定、纯化和cDNA克隆

RT-PCR扩增产物用琼脂糖电泳检测，胶回收，纯化后cDNA克隆。采用TaKaRa公司的PMD18-T载体，按其操作说明进行连接反应，然后参照Sambrook et al（1989）的方法将连接产物转化大肠杆菌DH5αF菌株，挑选白色单菌落，用PCR筛选重组转化子，筛选的重组子扩大培养。

1.7 cDNA序列测定

由上海基康公司完成序列测序。其中由引物对3F和4R扩增的PCR产物直接正反双向测序；由两对引物1F、2R和5F、6R扩增的PCR产物纯化后转到pMD18-T载体上，用载体上的通用引物做双向测序。序列正反链重叠测定编辑校正后，采用CLUSTALX和DNAStar软件进行序列拼接和比较分析，同时用BLAST程序做同源（相似）性比较。

2 结果与讨论

树鼩CycT1基因的cDNA大小为2175bp(图

表1 克隆树鼩CycT1 cDNA所用引物
Table 1 The primers used for cloning tsCycT1 cDNA

引物 Primers	序列 Sequences（5'→3'）	引物位置 Position[1]
1F	ATG GAG GGA GAG AGG AAG AAC AAC A	45～69
2R	ACT GCA GGC TAA ATG TGG TCA AAT	592～615
3F	AAT TTT GCA GAC TTT AGG CTT TGA A	461～485
4R	CTT ATC AGC TGC AGC ATG GAC TTT T	1 496～1 520
5F	GCT CTC AAA ATG CGA ATC TCA GTG G	1 419～1 443
6R	TAG GAA GGG GTG GAA GTG GTG GAG	2 197～2 220

[1]指相对于hCycT1 cDNA中的位置（基因登录号：AF048730）。F表示正向引物；R表示反向引物。
[1] The positions of primers refer to those of hCycT1 cDNA (Genbank Accession No. AF048730). F represents forward primers and R indicates reverse ones.

```
ATGGAGGGAGAGAGGAAGAACAACAACAAACGGTGGTATTTTACTCGAGAACAGCTGGAAAATAGCCCATCCCGTCGTTTTGGCG    85
TGGACCCGGATAAAGAACTTTCCTATCGCCAGCAGGCGGCCAATCTGCTCCAGGACATGGGGCAGCGTCTTAACGTCTCACAATT   170
GACTATCAATACTGCTATAGTATACATGCATCGATTCTACATGATTCAGTCCTTCACACAGTTTCATCGAACTTCTGTGGCTCCA   255
GCAGCCTTGTTCCTGGCAGCTAAAGTAGAGGAGCAGCCAAAAAAATTGGAACATGTCATCAAAGTGGCACATACTTGTCTCCATC   340
CGCAGGAGTCCCTTCCTGATACTAGGAGTGAGGCTTATCTTCAACAAGTTCAAGATCTGGTGATTTTAGAAAGTATAATTTTGCA   425
GACTTTAGGCTTTGAACTAACAATTGATCACCCACATACACATGTGGTAAAGTGCACTCAGCTTGTTCGAGCAAGCAAGGACTTG   510
GCACAGACTTCTTACTTCATGGCAACCAACAGCCTGCATTTGACCACATTTAGCCTGCAGTACACACCTCCTGTGGTGGCCTGTG   595
TCTGCATTCATCTGGCTTGCAAGTGGTCCAACTGGGAGATCCCAGTATCAACTGACGGGAAGCACTGGTGGGAGTATGTTGACGC   680
CACTGTGACCTTGGAACTTTTAGATGAGCTGACACATGAATTTCTACAGATTCTGGAGAAAACTCCCAACAGACTCAAACGCATT   765
CGGAATTGGAGGGCATGCCTGGCTGCTAGGAAAACAAAAGCAGATGACCGAGGAGCAGATGAAAACACTTCGGAACAGACAATCC   850
TCAATATGATTTCTCAGAGCTCTTCCGACACAACTATTGCAGGTTTAATGAGCATGTCAACTTCCTCTACAAGTGCAGTGCCTTC   935
CCTTCCAGTTGCTGAAGAGTCATCTAGCAATTTAAGCAGTGTGGAGATGTTGCAGGGCGAGCGTTGGCTGTCCTCCCAACCTCCT  1020
TTTAAACTAGAACCTACTCAGGGTCATCGGACTAGTGAGAATTTAGCACTTATAGGAGTTGACCATTCCTTGCAACAGGATGGTT  1105
CAAACACGTTTATTTCCCAGAAGCAGAGTAGTAAGAGTGTGCCATCAGCTAAAGTATCCCTGAAAGAATACCGTGCAAAGCATGC  1190
AGAGGAGTTGGCTGCCCAGAAGAGGCAGCTGGAGAACATGGAGGCCAATGTGAAATCACAGTATGCGTATGCTGCACAGAATCTC  1275
CTTTCTCACCATGACAGCCATTCTTCCGTTATTCTGAAGATGCCCATGGAGGGCTCAGAAAACCCTGAACGGAATTTTCTGGAAA  1360
AGGGTGATAAAACAGCTCTCAAAATGCGAATCCCAGTGGCAGGTGGAGATAAAGCTGCCTCTTCAAAACCAGAAGAGATAAGAAT  1445
GCGCATTAAAGTTCATACTGCAGCTGACAAACACAATTCTGTAGAAGACAGTGTCACAAAGAGCCGAGAGCACAAAGAAAAGCAC  1530
AAGACTCATCCTTCTAATCATCACCATCATAATCACCATTCACACAAGCACTCTCACTCACAGCTTCCAGCTGGTACTGGGAACA  1615
AACGTCCAGGTGATCCAAAACATAGCAGTCAGACCAGCACCGTAGCCCACAAAACCTATAGCTTGTCCAGTTCTTTTTCTTCTTC  1700
CAGTTCTACTCGTAAAAGGCCCCCTCCTGAAGAAACTGGAGGGGCAGTGTTTGATCATCCAGCCAAGATTGCCAAGAGTACTAAA  1785
TCTTCCATAAATTTCCCTTTCCCTCCCCTCCCTACAATGGCCCAGTTGCCTGGGCATAGCTCAGACACAAGTGGCCTTCCCTTTT  1870
CACAGCCTAGCTGTAAAACTCGAGTTCCTCATGGGAAACTGGATAAAGGTCCCACTGGGGCCAATGGTCACAACACAACTCAGAC  1955
AATAGACTATCAAGATACTGTGAATATGCTTCATTCCCTGCTCAGTGCCCAGGGTGTTCAGCCCACTCAGCCCCCTGCTTTTGAA  2040
TTTGTTCATTCTTATGGTGAATATCTGAATCCACGGGCTGGTGGAATCTCCTCCAGATCTGGCAATACAGACAAACCCAGGCCAC  2131
CACCTCTACCATCAGAACCTCCTCCACCACTTCCACCCCTTCCTAAGTGA                                        2175
```

图 1　树鼩细胞周期蛋白 T1 的 cDNA 核苷酸序列（基因登录号为 AY191417）

Fig.1　Sequence of tsCycT1 cDNA (GenBank accession No.AY191417)

1)，编码 724 个氨基酸，命名为 tsCycT1（图 2）。在核苷酸水平上，tsCycT1 与人 CycT1（hCycT1）、马 CycT1（eCycT1）、小鼠 CycT1（mCycT1）分别有 92.6%、93.1%、88.6%的相似性。在氨基酸水平上，tsCycT1 和 hCycT1、eCycT1、mCycT1 分别有 94.1%、94.3%和 91.7%的相似性；氨基酸序列的氨基端，tsCycT1 和 hCycT1 有很高的相似性。例如，在氨基端 1—272 位置，tsCycT1 和 hCycT1 有 97.8%的相似性；在氨基酸残基 1—254，tsCycT1 和 hCycT1 有 98.8%的相似性。此外，在第 251—254 和 256—269，氨基酸残基与 hCycT1 完全相同。即 5 个决定HIV-1 Tat-CycT1与TAR结合的Tat:TAR 识别基序（Tat:TAR recognition motif，TRM）的残基（R251、L252、R254、I255 和 W258），以及两个决定 CycT1-Tat 与 TAR 结合的关键位点（261 的半胱氨酸残基 Cys 和 259 的精氨酸残基 Arg），树鼩和人完全相同（图 2）。

hCycT1 包含细胞周期蛋白结构域（Cyc domain）、TRM、卷曲基序（coiled-coil motif），富含组氨酸基序（His-rich motif）和位于羧基端的 PEST（Pro、Glu、Ser、Thr）序列。其中，Cyc domain（氨基酸残基 1—254）和 TRM（254—272）参与结合 HIV-1 Tat 和 TAR RNA。Cyc domain 富含 α 螺旋区（α1—α5 和 α1'—α5'）。α1—α5 是 cyclin 依赖激酶识别位点，α1'—α5' 的羧基端（氨基酸残基 254—272）是 TRM。hCycT1 氨基端 272 个氨基酸是 CycT1 作用于 HIV-1 Tat 和 TAR RNA 的最小区域，其中 1—251 氨基酸残基参与完成 cyclin 结构的折叠和活性的表达，而 TRM 是 hCycT1 和 Tat 的结合区（Garber et al，1998）。

体外突变 hCycT1 氨基酸残基 251—254 和 256—269，hCycT1就不能和Tat及TAR形成复合物

```
hu  MEGERKNNNKRWYFTREQLENSPSRRFGVDPDKELSYRQQAANLLQDMGQRLNVSQLTINTAIVYMHRFYMIQSF  75
ts  ...........................................................................  75
mo  ..............................S............................................  75
ho  .............................L.............................................  75

hu  TQFPGNSVAPAALFLAAKVEEQPKKLEHVIKVAHTCLHPQESLPDTRSEAYLQQVQDLVILESIILQTLGFELTI  150
ts  ...HRT.....................................................................  150
mo  ...HRY.M...................................................................  150
ho  ...HR...............G.............A........................................  150

细胞周期蛋白 T1 结构域 (Cyc domain) （氨基酸 1—254）
hu  DHPHTHVVKCTQLVRASKDLAQTSYFMATNSLHLTTFSLQYTPPVVACVCIHLACKWSNWEIPVSTDGKHWWEYV  225
ts  ...........................................................................  225
mo  ...........................................................................  225
ho  ...........................................................................  225

TRM (氨基酸 250—272)
hu  DATVTLELLDELTHEFLQILEKTP[redacted]GTDEKTSEQTILNMISQSSSDTTIAGLM  300
ts  ........................[redacted].A..N.......................  300
mo  ........................[redacted].A..N............T..........  300
ho  ........................[redacted]............................  300

hu  SMSTS-TTSAVPSLPVSEESSSNLTSVEMLPGKRWLSSQPSFKLEPTQGHRTSENLALTGVDHSLPQDGSNAFIS  374
ts  .....-S.........A.......S.....Q.E.......P.................I......Q.....T...  374
mo  ....A-S........S......S....D..Q.E.......P....AA.......S...I......Q....S..G.  374
ho  .....S...T.....TT.......SG....Q.E.......P.....A..................Q.........  375

hu  QKQNS-KSVPSAKVSLKEYRAKHAEELAAQKRQLENMEANVKSQYAYAAQNLLSHHDSHSSVILKMPIEGSENPE  448
ts  ...S.-.............................................................M.......  448
mo  ...A.-...................................................-...........S.....  447
ho  .....S.....................................................................  450

hu  RPFLEKADKTALKMRIPVAGGDKAASSKPEEIKMRIKVHAAADKHNSVEDSVTKSREHKEKHKTHPSNHHHHHNH  523
ts  .N....G.........................R......T............................-......  522
mo  ....D....S.....L...S....V..............S.G.....I.............QR............  522
ho  ......P............S.....................P.....ID..........................  525

hu  HSHKHSHSQLPVGTGNKRPGDPKHSSQTSNLAHKTYSLSSSFSSSSSTRKRGPSEETGGAVFDHPAKIAKSTKSS  598
ts  ...........A.................TV....................P.P.....................  597
mo  ...R...L...A.PVS...S.........T..........TL...........P....A................  597
ho  .............................T.................S.....P......L..............  600

hu  SLNFSFPSLPTMGQMPGHSSDTSGLSFSQPSCKTRVPHSKLDKGPTGANGHNTTQTIDYQDTVNMLHSLLSAQGV  673
ts  -I..P..P....A.L..........P............G....................................  671
mo  -...P..P....T.L..........P............M......P......A..S...................  671
ho  .I..-..P....A.L..........P............M...............................H....  674

hu  QPTQPTAFEFVRPYSDYLNPRSGGISSRSGNTDKPRPPPLPSEPPPPLPPLPK  726
ts  .....P.....HS.GE.....A...............................  724
mo  ....AP.....HS.GE.M...A.A......T......................  724
ho  .....PTL.E.H..GE.....A...P...........................  727
```

图 2 人、树鼩、小鼠和马的细胞周期蛋白 T1 的氨基酸序列的同源性比较

Fig.2 Alignment of the predicted amino acid sequences of human, tree shrew, mouse and horse CycT1

hu，ts，mo，ho 代表人、树鼩、小鼠和马，其基因登录号分别为 AAC39664、AAO25528、NP_033963 和 AAF04138（hu，ts，mo，ho indicate human，tree shrew，mouse，and horse，which GenBank accession No. are AAC39664，AAO25528，NP_033963，and AAF04138，respectively）。

```
                TRM (aa 250–262)
huCycT1 N R L K R I W N W R A©E A A K K T K A D D R
          * # #   # #     # *   *
tsCycT1 N R L K R I[R]N W R A©[L]A A[R]K T K A D D R
          * # #   # #     # *   *
moCycT1 N R L K R I[R]N W R A(Y)[Q]A A[M]K T K[P]D D R
          * # #   # #     # *   *
                (aa 250–272)
```

图 3　人、树鼩和小鼠 CycT1 的 250—272 位点的氨基酸序列相似性

Fig.3　Similarity of the predicted amino acid sequences between positions of 250 and 272 in human，tree shrew and mouse CycT1s

hu，ts，mo 同图 2（hu，ts，mo are the same with Fig.2）。
*：结合 HIV-1 Tat 的氨基酸残基（Amino acid needed to bind with Tat）；#：TAR RNA 识别位点的氨基酸残基（Amino acid required for TAR RNA recognition）；○：CycT1 与 Tat 和 TAR 结合的最关键氨基酸残基（Amino acid critical acid for the binding of CycT1 with Tat and TAR）；□：树鼩和小鼠与人不同的氨基酸残基（Amino acid in humans，which was not the same with that in tree shrews and mice）。

(Garber et al，1998)；定点突变 hCycT1 氨基酸残基 R251、L252、R254 和 C261，可以改变 hCycT1-Tat：TAR 复合物的形成；定点突变 N250、I255、W258 和 R259，可以在很大程度上减少 hCycT1-Tat 与 TAR 的结合；定点突变半胱氨酸，hCycT1 不能结合 Tat(Garber et al，1998)(图3)。其中，精氨酸 R259（Arg）和半胱氨酸 C261（Cys）是最重要的氨基酸，C261 与 Tat：TAR 结合形成高亲和的、锌依赖的锌指蛋白结构。已有研究发现，mCycT1 的第 261 位的氨基酸是酪氨酸（Tyr），使得 mCycT1 不能与 HIV-1 的 Tat 及 TAR 形成高亲和的复合物，不能有效地支持 HIV 的转录。因此，即使 HIV-1 病毒进入小鼠淋巴细胞内，它也不能复制和增殖(Bieniasz et al，1999)。

由图 3 可见，在 tsCycT1 的 TRM 第 250 至 262 位氨基酸，除了 256（Arg）和 262（Leu）与 hCycT1 不同外，其余与 HIV-1 Tat 和 TAR 结合的氨基酸残基，与人的完全相同。因此，推测 tsCycT1 能与 HIV-1 Tat 形成锌依赖的复合物，促使 Tat 与 TAR RNA 紧密结合，从而促使 HIV-1 的转录得以延伸。这些结果从 cyclinT1 的蛋白结合 HIV-1 Tat 的角度间接验证了 Hofmann et al（1999）的发现，即树鼩细胞确实支持 HIV-1 进入细胞后转录和复制的步骤。这为深入研究树鼩是否可以作为 HIV-1 感染的动物模型提供了分子生物学依据。

致谢：中国科学院昆明动物研究所曹筱梅、许全菊、韦云珍、夏雪山、俞明灿等同志对本研究给予热忱帮助，谨此致谢。

参考文献：

Bieniasz PD，Grdina TA，Bogerd HP，Cullen BR. 1999. Recruitment of cyclin T1/P-TEFb to an HIV type 1 long terminal repeat promoter proximal RNA target is both necessary and sufficient for full activation of transcription [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96** (14): 7791–7796.

Flugge G. 1999. Effects of cortisol on brain alpha 2-adrenoceptors potential in stress [J]. *Neurosci. Biobehav. Rev.*, **23** (7): 949–956.

Fujinaga K，Taube R，Wimmer J，Cujec TP，Peterlin BM. 1996. Interactions between human cyclin T1，Tat and the transactivation response element (TAR) are disrupted by a cysteine to tyrosine substitution found in mouse cyclin T [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **96**: 1285–1290.

Garber ME，Wei P，Kewal-Ramani VN，Mayall TP，Herrmann CH，Rice AP，Littman DR，Jones K. 1998. The interaction between HIV-1 Tat and human cyclin T1 requires zinc and a critical cysteine residue that is not conserved in the murine CycT1 protein [J]. *Genes & Dev.*, **12**: 3512–3527.

Gold MO，Yang XZ，Herrmann CH，Rice AP. 1998. PITALRE，the catalytic subunit of TAK，is required for human immunodeficiency virus Tat transactivation *in vivo* [J]. *J. Virol.*, **72**: 4448–4453.

Hofmann W，Schubert D，LaBonte J，Munson L，Gibson S，Scammell J，Ferrigno P，Sodroski J. 1999. Species-specific，postentry barriers to primate immunodeficiency virus infection [J]. *J. Virol.*, **73**: 10020–10028.

Peng JM，Marshall NF，Price DH. 1998. Identification of a cyclin subunit required for the function of drosophila P-TEFb [J]. *J. Biol. Chem.*, **22**: 13855–13860.

Sambrook J，Fritsch EF，Maniatis T. 1989. Molecular cloning: A Laboratory Manual [M]. 2nd. USA: Cold Spring Harbor Laboratory Press.

Siegwart JT Jr.，Norton TT. 1998. The susceptible period for deprivation-induced myopia in tree shrew [J]. *Vision Res.*, **38** (22): 3505–3515.

Xie ZC，Riezu-Boj JI，Lasarte JJ，Guillen J，Su JH，Civeira MP，Prietot J. 1998. Transmission of hepatitis C virus infection to tree shrew [J]. *Virology*, **244**: 513–520.

Wei P，Garber ME，Fang SM，Fischer WH，Jones KA. 1998. A novel CDK9-associated c-type cyclin interacts directly with HIV-1

Tat and mediates its high-affinity, loop-specific binding to TAR RNA. [J]. *Cell*, **92**: 451-462.

Yan RQ, Su JJ, Huang DR, Yang C, Huang GH. 1989. A study on primary liver cancer in tree shrews induced by human hepatitis B virus and aflatoxin B1 [J]. *Chinese Journal of Pathology*, **18** (1): 19-22. [严瑞琪，苏建家，黄定瑞，杨 春，黄国华. 1989. 人乙型肝炎病毒和黄曲霉素B1诱发树鼩原发性肝癌的研究. 中华病理学杂志，**18** (1): 19-22.]

Zhan MY, Liu CB, Li CM, Zhang WY, Zhu C, Pang QF, Zhao TX, Wang CA, Wang JL, Yu CY, Li SF, Tong ZG, Lin ZH, Niu JQ. 1981. A preliminary study of hepatitis A virus in *Chinese tupaia* [J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, **3** (3): 148-153. [詹美云，刘崇柏，李成明，张文英，朱 纯，庞其方，赵同兴，王长安，王金利，余昌晏，李寿复，佟智功，林尊慧，牛京勤. 1981. 甲型肝炎病毒感染树鼩的初步研究. 中国医学科学院学报，**3** (3): 148-153.]

Zhang L, Ben KL. 2001. *In vitro* infection of tree shrew immunocytes with human immunodeficiency virus type-1 [J]. *Zool. Res.*, **22** (1): 33-40. [张 立，贲昆龙. 2001. 树鼩免疫细胞体外感染Ⅰ型人免疫缺陷病毒的实验研究. 动物学研究，**22** (1): 33-40.]

《中国哺乳动物种和亚种分类名录与分布大全》出版

由中国科学院昆明动物研究所王应祥研究员编著的《中国哺乳动物种和亚种分类名录与分布大全》，已于2003年3月由中国林业出版社出版，马建章院士作序。

此书系对目前中国哺乳动物分类、区系调查研究的全面系统总结，是近两个多世纪以来国内外学者在这一领域内所取得成果的集中反映。经作者认真地分类整理，将中国哺乳动物修订为13目、55科、235属、607种另968亚种（或居群）。可谓是目前有关中国哺乳动物种类最多、分布最全和最新的记录。较国内一些专著增加了62~225种，比国外的一些权威专著还多了约200种，从而使中国的哺乳动物物种多样性在世界的排名由第五位而跃居第一位，超过印度尼西亚（519种）。该书基本上是采用国际上最新的分类系统和观点进行修订，拉丁学名也基本与国际上新的观点接轨，书中各分类阶元的分布资料内容丰富、翔实，语言精炼且逻辑性强。特别是具有全国性分布的特有属、特有种和特有亚种的分布资料，尚属首次公诸于世。

书中设计的4个附录，为本书增色不少。附录A为中国一些地区和单位已采到标本，因性状特殊，可能是新种或新属但尚未发表或有疑问的种；附录B为与中国毗邻的周边国家或地区有分布，据报道在中国也有分布或可能有分布，迄今尚缺乏证据标本的种类；附录C为家畜、医学实验动物、引种的经济动物和宠物的学名和起源的简介；附录D为国家重点保护野生动物名录（1988）和濒危野生动植物国际贸易公约（CITES）附录（2000）的哺乳动物保护等级，并比较了这两个名录动物名称和保护等级的差异。其中附录A和附录B可为今后我国哺乳动物分类学的进一步研究提供依据和线索；附录C或许会为从事哺乳动物产业开发、资源利用及动物爱好者提供某些帮助；附录D则对中国珍稀、濒危动物的保护管理，进出口管理和与国际接轨有重要的参考价值。

书后有详尽的参考文献；全书中英文对照，便于国内外学者参阅和交流。

此书可与郑作新院士编著的《中国鸟类种和亚种分类名录大全》（1994）形成姊妹篇，系统反映哺乳类和鸟类这两大类最重要的野生动物在中国的分类现状，且有各分类阶元的详细分布和可供实用的附录使之别具特色。本书的出版，能给野生哺乳动物的研究和教学、自然保护与资源利用、卫生防疫和鼠害防治，以及大专院校师生提供参考；也可为进出口贸易、司法、海关、工商行政管理等有关部门提供帮助。

全书约35万字，394页，大32开本，硬皮精装，售价75元人民币（含挂号、邮资费）。欲购者可与云南省昆明市教场东路32号：中国科学院昆明动物研究所图书馆李健立女士联系。

邮编：650223；电话：0871-5132477；E-mail：lijl@mail.kiz.ac.cn。

科研处

（中国科学院昆明动物研究所 650223）